

RPR reditest

3000-55-50;
3000-55-11

Szybki test do jakościowego i ilościowego oznaczania kiły w surowicy lub osoczu.

Informacje podstawowe

RPR reditest jest niekrętkowym, szybkim testem do wykrywania kiły. Zawiesina antygeny RPR jest odmianą antygeny VDRL zawierającą pewne dodatki mające za zadanie wyeliminowanie konieczności inaktywacji termicznej surowicy, utrzymanie stabilności zawiesiny i umożliwienie wizualnego odczytu reakcji.

Zasada metody

Antygen RPR jest zawiesiną kardioliplinową zawierającą mikrocząsteczki węgla drzewnego. Antygen wykrywa przeciwciała zwane "reaginami", które są obecne u pacjentów z kiłą. Jeżeli próbka zawiera reaginy, dochodzi do flokulacji antygeny, który koaguluje z mikrocząsteczkami węgla dając czarne zlepy różnej wielkości. Wielkość powstających zlepy zależy od miana reagin. W próbkach nie reagujących nie dochodzi do reakcji utrzymuje się jednorodna szara zawiesina.

Składniki

- **[REAG]** RPR zawiesina antygeny:
0.003% kardiolipina, 0.020-0.022% lecytyna, 0.09% cholesterol, 0.0125 M EDTA, 0.01 M Na₂HPO₄, 0.01 M KH₂PO₄, 0.1% thimerosal, 10% chlorek choliny w/v, 0.01% mikrocząsteczki węgla drzewnego i woda destylowana.
- **[CONTROL+]** Kontrola dodatnia:
Rozcieńczona surowica królicza. Zawiera < 0.1% azydku sodu.
- **[VIAL]** butelka dozująca.
- **[NEEDLE]** igła dozująca.
- **[SLIDES]** Jednorazowe karty z polami testowymi.
- **[DISP]** patyczek do mieszania.

Środki ostrożności

RPR reditest jest przeznaczony tylko do badań IN VITRO do użytku laboratoryjnego.

Jako konserwant użyto azydku sodu. Azydek sodu może reagować z metalową instalacją kanalizacyjną, tworząc wybuchowe związki. Po wylaniu odczynnika, należy go obficie spłukać wodą.

Cały zużyty materiał należy usuwać do odpowiedniego pojemnika na odpady zakaźne.

Przechowywanie

Odczynniki utrzymują stabilność do daty ważności podanej na nalepce; jeżeli są przechowywane w temperaturze 2 - 8°C. Nie zamrażać. Zabronione jest narażanie antygeny na temperatury powyżej 30°C; może to doprowadzić do nieprawidłowego zachowania się antygeny w trakcie badań surowic nie reaktywnych.

Antygen przeniesiony do buteleczki dozującej i przechowywany w temperaturze 2 - 8°C, jest stabilny do 3 miesięcy lub do daty ważności (zależnie od tego, który termin upływa wcześniej).

Dostępne opakowania

- **[REF]** 3000-5511 zestaw 100 testów
1 x 2 ml RPR antygen, 1 x 1 ml kontrola dodatnia, 1 butelka dozująca, 1 igła dozująca,
10 kart testowych (x10) i 100 patyczków.
- **[REF]** 3000-5550 zestaw 500 testów
2 x 4.5 ml RPR antygen, 1 x 1 ml kontrola dodatnia, 1 butelka dozująca, 1 igła dozująca, 50 kart testowych (x10) i 500 patyczków.

Materiał potrzebny, ale nie dostarczony w zestawie

Mechaniczna wytrząsarka horyzontalna z 2cm zakresem ruchu (100 rpm), stoper, sól fizjologiczna (0.9% NaCl tylko do badań ilościowych), automatyczne pipety (tylko do badań ilościowych), normalna ludzka surowica do rozcieńczeń próbek dających wyniki dodatnie przy rozcieńczeniu 1:16 i lampa o dużej intensywności.

Pobieranie materiału

SUROWICA:

Używać świeżej surowicy. Jeżeli nie wykonujemy testu tego samego dnia, to próbki można przechowywać do 5 dni w temperaturze 2-8°C. Przy dłuższym przechowywaniu próbki powinny być zamrożone (-20°C).

OSOCZE:

Pobrać materiał do próbki z antykoagulantem (EDTA). Inne koagulanty należy sprawdzić przed użyciem do tego badania. Badanie należy wykonać w ciągu 24 godzin od pobrania.

WYKONANIE

Przygotowanie antygenu:

- Potrząsnąć butelką z antygenem w celu uzyskania jednolitej zawiesiny, unikając zbyt mocnego mieszania.
- Nałożyć igłę na butelkę dozującą i przenieść potrzebną porcję antygeny ze szklanej do plastikowej butelki.
- Przy każdym napełnieniu butelki dozującej należy ją oznaczyć numerem seryjnym i datą ważności antygeny oraz datą napełnienia.

Kontrola jakości:

- Przed wykonaniem rutynowych badań wskazane jest sprawdzenie antygeny RPR z kontrolą dodatnią znajdującą się w zestawie, postępując zgodnie z procedurą opisaną w części TEST JAKOŚCIOWY.
- Kontrola dodatnia powinna dawać wyraźne zlepy mikrocząsteczek węgla. Jeżeli reakcja ta nie wystąpi, to zestawu nie należy używać.

TEST JAKOŚCIOWY

1. Doprowadzić odczynnik do temperatury pokojowej (23 to 29°C).
2. Używając kroplomierza, nakropić jedną kroplę materiału badanego (lub kontroli) na pole testowe karty. Jeżeli używa się pipety automatycznej, należy nanieść 50µl.
3. Szerszym końcem patyczka rozprowadzić próbkę na całe pole testowe. Po użyciu patyczek należy umieścić w pojemniku na odpady medyczne.
4. Zamieszać zawartość butelki dozującej i trzymając ją pionowo nanieść kilka kropli antygeny w nakrętkę tej butelki, aby upewnić się, że kanał igły jest czysty i otrzymywane krople są prawidłowe. Następnie nakropić 1 wolno spadającą kroplę antygeny na pole testowe z materiałem badanym. Nie mieszać. Naciągnąć z powrotem antygen z nakrętki do butelki.
5. Umieścić karty testowe na wytrząsarce mechanicznej i mieszać 8 minut przy 100 rpm.
6. Krótco mieszać ręcznie ruchem kołowym, delikatnie nachylając kartę w celu odróżnienia minimalnej reakcji dodatniej od próbek nie reagujących. Odczytać makroskopowo używając żarówki o dużej mocy.
7. Po zakończeniu dziennej serii badań należy umyć igłę wodą destylowaną, zamknąć butelkę, wstawić do lodówki i przechowywać w temp. 2-8°C.

Interpretacja wyników

Reagujące: Charakterystyczne czarne zlepy węgla od drobnych do dużych na prawie czystym tle.

Niereagujące: Szara jednorodna zawiesina lub tylko niewielkie grudki.

Niektóre próbki mogą dawać pojawienie się grudek nie wywołanych reakcją lecz powodowanych powstawaniem granulek na obrzeżach pola testowego z zachowaniem jednorodnej zawiesiny w jego centrum. Manualne obracanie i przechylanie karty może pomóc w odróżnieniu tej formy od bardzo nieznacznej reakcji dodatniej.

2

RPR test jakościowy na PŁYTKACH MIKROTITRACYJNYCH (płaskodennych)	
Próbka	50 µl
Antygen	1 kropla (17 µl)
- 20 minut wytrząsania* -	
Czytać makroskopowo nad białym tłem, pod oświetleniem z lampy o dużej mocy.	
* Na mechanicznej wytrząsarce horyzontalnej, która może wykonywać ruchy okrężne o średnicy 2.0-2,5cm. Zalecana szybkość wytrząsania to 200 ± 50 rpm.	

TEST ILOŚCIOWY

1. Rozpipetować po 50 µl soli fizjologicznej na pola testowe od 2 do 5.
2. Używając pipety automatycznej, dodać 50 µl materiału badanego na pole 1 i 50 µl dokładnie na kroplę soli fizjologicznej na pole 2.
3. Używając tej samej pipety kilkakrotnie naciągnąć i wypuścić mieszaninę soli fizjologicznej i materiału badanego z pola 2, aż do ich całkowitego wymieszania.
4. Przenieść 50 µl mieszaniny z pola 2 dokładnie do kropli soli fizjologicznej na polu 3.
5. Powtórzyć wyżej opisaną operację w celu uzyskania jednorodnej mieszaniny we wszystkich polach aż do 5, z którego należy na koniec usunąć 50 µl uzyskanej mieszaniny.

Pole	1	2	3	4	5
Sól fizjologiczna µl	-	50	50	50	50
Próbka µl	50	50	-	-	-
Wymieszać i przenieść µl		┌───┴───┐	┌───┴───┐	┌───┴───┐	┌───┴───┐
Rozcieńczenie	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16

6. Zbadać każde rozcieńczenie postępując zgodnie z procedurą TEST JAKOŚCIOWY.

Interpretacja wyników

Miano odpowiada najwyższemu rozcieńczeniu, przy którym występuje jeszcze wyraźnie widoczna reakcja dodatnia.

Jeżeli ostatnie rozcieńczenie próbki daje jeszcze reakcję dodatnią, należy przedłużyć serię rozcieńczeń. Jako rozcieńczalnika należy użyć normalnej surowicy ludzkiej rozcieńczonej solą fizjologiczną w stosunku 1:50.

Ograniczenia metody

Fałszywie dodatnie reakcje opisywano głównie w materiale pochodzącym od osób uzależnionych (narkomanów), u chorych na schorzenia takie jak trąd, malaria, toksoplazmoza, mononukleozę, LE, wirusowe zapalenie płuc i u ciężarnych. Inne krętkowice mogą również dawać wyniki dodatnie tego testu.

Brak reakcji (wyniki ujemne) przy ewidentnej, klinicznie potwierdzonej kile, może występować we wczesnej kile pierwotnej, w kile wtórnej i w niektórych przypadkach kily późnej.

Nie używać do badania płynu mózgowo-rdzeniowego.

Wartości oczekiwane

Nie powinno się diagnozować kily bez odniesienia do historii choroby pacjenta lub objawów klinicznych. Wszystkie wyniki dodatnie muszą być potwierdzone badaniami ilościowymi i poddane dodatkowym badaniom w celu potwierdzenia obecności specyficznych przeciwciał przeciwkrętkowych (syphagen TPHA REC, COD. 300615707 i bioelisa syphilis, COD. 3000-1148).

Wyniki dodatnie mogą wskazywać na przebytą lub obecną infekcję, ale również mogą być wynikami fałszywie dodatnimi, które można rozpoznać po uzyskiwaniu wyników ujemnych w testach potwierdzających.

Charakterystyka jakości

RPR reditest był sprawdzany przez porównanie ze standardowym testem RPR i VDRL w oparciu o standardy RPR i VDRL z Centrum Kontroli Chorób.

Wszystkie 505 próbek surowicy ze szpitala przebadano metodą jakościową. Uzyskano 99% zgodność pomiędzy standardowym testem RPR a **RPR reditest**, 97.8% pomiędzy VDRL a **RPR reditest**, i 97.6% pomiędzy standardowym testem RPR a testem VDRL..

Czułość wszystkich trzech testów niekrętkowych oparta na indywidualnych przypadkach klinicznych (52 potwierdzone leczone i nieleczone przypadki kily), i wynosiła ona 92.3% dla obu testów RPR i 88.5% dla testu VDRL. Specyficzność tych 3 testów niekrętkowych oparto na badaniach 453 próbek surowicy od osób, które nie chorowały na kilę i wyniosła ona 99.3% dla **RPR reditest**, 99.6% dla standardowego testu RPR i 98.9% dla testu VDRL.

W tych samych badaniach przeprowadzono także badanie 174 par próbek surowicy i osocza. Zgodność wyników pomiędzy próbkami surowicy i osocza wynosiła 99.4% dla **RPR reditest** i 98.9% dla standardowego testu RPR. Czułość testów wykonywanych w osoczu wynosiła dla obu testów RPR 100% a specyficzność - 99.4%.

Rezultaty tych testów wykazują, że **RPR reditest** ma odpowiednią dla potrzeb klinicznych czułość i specyficzność.

Bibliografia

1. A manual of Tests for Syphilis. American Public Health Association. 8th edition, 1990.
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH manual, 4th edition, 1999.
3. Dorwart BB and Myers AR. Comparison of rapid plasma reagin slide test and venereal disease research laboratory test in the detection of biological false positive reactions in systemic lupus erythematosus. Brit J Vener Dis 50: 435-436, 1974.
4. Fischer GS, Kleger B and Colavita MT. Reactivity of Dade rapid plasma reagin slide test low-titer sera. J Clin Microbiol 19: 435, 1984.
5. Paris-Hamelin A, Vaisman A et Fustec-Ibarboure S. Sérodiagnostic de la syphilis avec l'antigène "VDRL-Charbon". Feuilles de Biologie 15: 39-42, 1974.
6. Perryman MW, Larsen SA, Hambie EA, Pettit DE, Mullally RL and Whittington W. Evaluation of a new rapid plasma reagin slide test as a screening test for syphilis. J Clin Microbiol 16: 286-290, 1982.
7. Portnoy J, Garson W and Smith CA. Rapid plasma reagin test for syphilis. Public Health Rep 72: 761-766, 1957.
8. Portnoy J. Modifications of the rapid plasma reagin (RPR) slide test for syphilis, for use in large scale testing. Amer J Clin Pathol 40: 473-479, 1963.
9. Reed EL. The rapid plasma reagin (Circle) slide test for syphilis as a routine screening procedure. Public Health Lab 23: 96-103, 1965.
10. Reed EL. The combined use of the RPR slide and FTA-Abs tests in the serodiagnosis of syphilis. Public Health Lab 26: 123-134, 1968.
11. Tiedemann JH and Mullins J. The RPR slide test as a diagnostic aid in a venereal disease clinic. Public Health Lab 24: 12-15, 1966.
12. Walker AN. Rapid plasma reagin (RPR) slide test: A screening method for treponemal disease. Brit J Vener Dis 47: 259-262, 1971.



BIOKIT, S.A.
08186 Lliçà d'Amunt
BARCELONA – SPAIN

3800-1320
06/02

DYSTRYBUTOR: Alpha Diagnostics Sp. z o.o.

ALPHA DIAGNOSTICS sp. z o.o., 01-347 Warszawa, ul. Gabriela 2 Dział sprzedaży - tel. 6327513; centrala - 6314013; fax 6324211;
Produkcja, Magazyn, Kontrola Jakości, Serwis: ul. Stepińska 22/30 00-739 Warszawa tel. 6314227; fax 6314823
e-mail: ad@alphadiag.com.pl; www.alphadiag.com.pl